动 物 学 研 究 1998，19（3）：197—202 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

不同年龄和性腺发育期鲤鱼不同脑区的sGnRH分布及其变化

王 黎[①] 林浩然
（中山大学生命科学学院水生经济动物研究所 广州 510275）

摘要 在不同年龄和不同性腺发育时期，鲤鱼(*Cyprinus carpio* L.)脑sGnRH总含量和sGnRH在各脑区的分布都有明显的变化。幼鱼脑sGnRH的功能还不够成熟，主要表现为脑sGnRH含量低，各脑区sGnRH分布的变化不明显。3⁺龄鱼脑的sGnRH总含量和1⁺龄鱼相比没有明显差异，但嗅球的sGnRH含量较高，脑垂体的sGnRH含量较低。1⁺龄鱼脑sGnRH总含量在性腺发育早期低，中期显著升高，并保持到成熟期，退化期又下降，呈明显的季节性变化。参与生殖功能的脑区的sGnRH含量也显示出比较一致的季节性变化。

关键词 促性腺激素释放激素，不同脑区，年龄，鲤鱼 GnRH
中图分类号 Q959.468

促性腺激素释放激素(GnRH)是调节硬骨鱼类GtH和GH分泌的重要神经内分泌因子。关于脑sGnRH含量随着性腺发育状态的变化已有过一些报道。新月鱼随着性成熟，GnRH神经原的免疫细胞化学染色增加(Halpern-Sebold，1983)。虹鳟(Okuzawa等，1990)和马苏大麻哈鱼(Amano，1992)从性未成熟到性成熟期间，脑sGnRH含量增加。Yu等(1987)报道了金鱼脑sGnRH浓度在一些脑区的变化。Rosenblum (1994)对金鱼幼鱼和产卵后成鱼脑sGnRH的含量也进行了研究。但到目前为止，还没有看到不同脑区的sGnRH含量在整年生殖周期变化的报道。本文首次比较研究了不同年龄和不同性腺发育时期鲤鱼各脑区sGnRH的分布及其变化。

1 材料和方法

1.1 实验用鱼

幼鲤、1⁺龄和3⁺龄鲤鱼雌鱼购于广州东莞渔场。每组鱼10尾。取材的年龄分别为：3月龄(1995-04，肉眼不能分辨性腺，B.W：5—10g)、1⁺龄性腺发育不同时期(早期：1995-10，GSI：3.4%—9.8%，B.W：410—495g；中期：1995-11，GSI：10.7%—14.3%，B.W：430—500g；成熟期：1996-02，GSI：31.1%—43.4%，B.W：600—800g；退化期：1996-06，GSI：4.7%—8.1%，B.W：450—550g)、3⁺龄性腺成熟期(1996-02，GSI：29.1%—32.5%，B.W：4000—6000g)。根据鱼

① 王 黎：现在韩国做博士后研究

本文1997-07-02收到，1997-09-29修回

体鳞片上的年轮推断鱼的年龄。

1.2 脑组织抽提液的制备

参照 Yu 等(1987)和 Rosenbluma 等(1994)的方法制备脑组织抽提液。取样时，用断头法取出脑组织置于冰浴的玻璃培养皿中。脑组织被快速切分为：嗅球、端脑、视盖-丘脑、下丘脑、小脑、延脑和脑垂体，放入 1.5 mL Eppendorf 冰浴离心管内。组织在 1 mL 冰乙酸中超声波匀浆。匀浆液在 4℃、13 000 r／min 离心 15 min，上清液冷冻干燥，干燥后，加入 1.0 mL 测定缓冲液(10 mmol／L Tris，pH7.4，含 0.5%BSA)。样品贮于 -20℃待测 sGnRH 含量。

1.3 sGnRH 的放射免疫测定

组织抽提液的 sGnRH 含量测定采用特异性 sGnRH 放射免疫测定法(Yu 等，1987)。sGnRH 用氯胺-T 法标记。在 RIA 中，采用活性炭吸附法。sGnRH 的抗血清 Lot No.2 为日本 Aida 教授赠送。

1.4 数据处理

sGnRH 含量以平均值±标准误表示。用 Duncan 氏新复级差检验不同组间 sGnRH 含量的差异，$P<0.05$ 为差异显著。

2 实验结果

2.1 1⁺龄性腺发育不同时期 sGnRH 在鲤鱼各脑区的分布及其变化

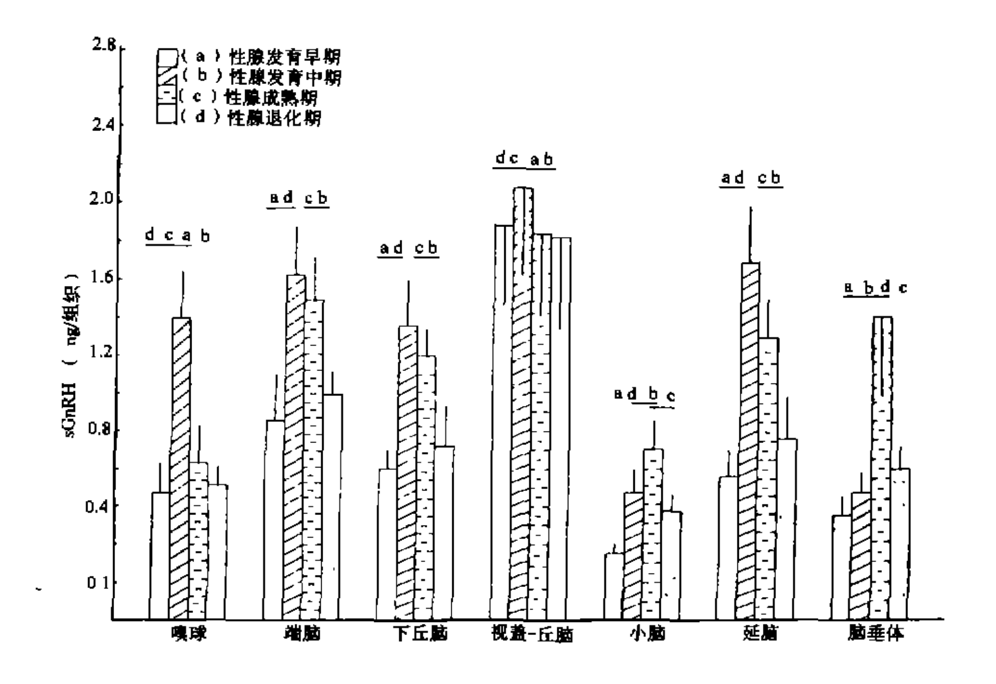


图 1 1⁺龄鲤鱼不同性腺发育时期不同脑区的 sGnRH 分布

Fig. 1 Distribution of sGnRH in discrete brain areas in common carp of different gonadal conditions

不同字母以连线表示相似的含量(the similar sGnRH contents were identified by the same underscore).

从脑 sGnRH 总含量看，性腺发育早期 sGnRH 含量最低〔(4 828.09±293.72)pg〕，到中期已显著升高〔(9 008.11±123.74)pg〕，成熟期〔(8 483.33±267.8)pg〕和中期相比没有明显变化，到退化期〔(5 716.11±180.9)pg〕又明显下降，而接近于早期水平，呈现出明显的生殖季节性变化。

从 sGnRH 在各脑区的分布看(图 1，左)，在不同性腺发育时期，sGnRH 的分布具有一定的规律性。以性腺发育早期为例，小脑 sGnRH 含量最低，其次是脑垂体、嗅球和延脑，再次是下丘脑和端脑，而视盖-丘脑的含量最高。在不同的性腺发育时期，视盖-丘脑的 sGnRH 含量始终没有明显变化(图 1，右)，其他脑区的 sGnRH 含量由性腺发育早期到中期都明显增加，以嗅球、端脑、下丘脑和延脑的增加最为显著，但脑垂体的 sGnRH 含量没有明显变化。由性腺发育中期到成熟期，最明显的变化是嗅球和脑垂体，嗅球的 sGnRH 含量急剧下降，而脑垂体的 sGnRH 含量则显著升高。由性腺成熟期到退化期，各脑区的 sGnRH 含量又明显下降到和早期相似的水平。总的来看，呈现出相似的季节性变化。

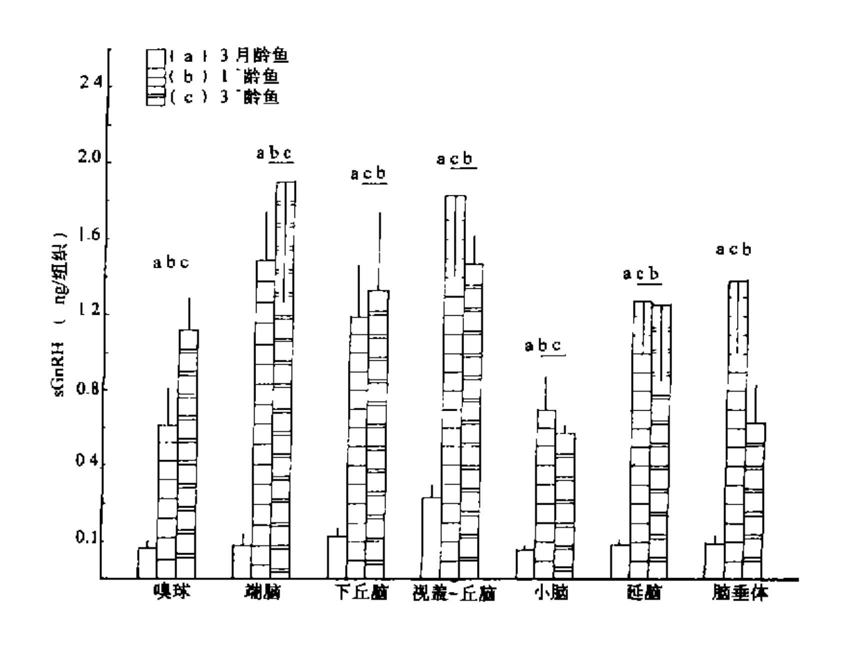


图 2　不同年龄鲤鱼不同脑区的 sGnRH 分布

Fig. 2　Distribution of sGnRH in discrete brain areas in common carp of different ages

说明同图 1 (see legend to Fig. 1)。

2.2　不同年龄鲤鱼 sGnRH 在各脑区的分布及其变化

比较 3 月龄鱼和 1^+龄与 3^+龄性腺成熟期鱼脑 sGnRH 的总含量，可以看到 3 月龄鱼的脑 sGnRH 总含量〔(745.09±35.95)pg〕明显低于 1^+龄〔(8 483.33±267.8)pg〕和 3^+龄〔(8 305.83±210.7)pg〕性腺成熟期鱼，而 1^+龄和 3^+龄鱼没有明显差异。

在 3 月龄鱼，视盖-丘脑的 sGnRH 含量最高，这和成鱼相似，但其他各脑区的 sGnRH 含量却没有明显的差别(图 2，左)。对比 1^+龄和 3^+龄性腺成熟期鱼，sGnRH 含量最显著的差别在嗅球和脑垂体(图 2，右)。在 1^+龄性腺成熟期鱼，嗅球 sGnRH 含量明

显下降，而脑垂体 sGnRH 含量显著上升；在 3^+龄性腺成熟期鱼，嗅球 sGnRH 含量仍很高，而脑垂体 sGnRH 水平则很低。1^+龄和 3^+龄性腺成熟期鱼其他脑区的 sGnRH 含量没有明显差异。

3 讨论

3.1 鲤鱼脑 sGnRH 含量的生殖季节性变化

sGnRH 存在于所测定的各个脑区，表明鲤鱼 sGnRH 也广泛分布于中枢神经系统，这和 Rosenblum 等(1994)对金鱼的研究结果一致。对金鱼(Kah 等，1993)、马苏大麻哈鱼(Amano 等，1991)等进行的免疫细胞化学研究也证明了 sGnRH ir-神经细胞体和神经纤维在各个脑区的广泛分布。sGnRH 含量在鲤鱼脑的广泛的分布，提示 sGnRH 可能具有多种生理功能。

鲤鱼脑 sGnRH 总含量呈现明显的生殖季节性变化，表明 sGnRH 的分泌是随着性腺发育状况而改变的。在七鳃鳗(Youson 等，1991)、虹鳟(Okuzawa 等，1990)、马苏大麻哈鱼(Amano 等，1992)的变态和性成熟期间，脑 sGnRH 含量逐渐增加。在成熟金鱼，sGnRH 含量在脑和脑垂体也明显增加(Rosenblum 等，1994)。虽然 Yu 等(1987)没有发现金鱼脑 GnRH 含量和性腺发育存在相关的变化，本研究表明鲤鱼脑 sGnRH 含量随着性腺发育成熟而明显增加。Amano (1995)等用原位杂交技术证明了脑 sGnRH 含量与性成熟直接相关。因此，在性腺发育过程中，sGnRH 合成和分泌的变化，驱动了脑垂体 GtH 的合成和分泌，促进了性腺发育。

3.2 鲤鱼不同脑区 sGnRH 的分布

嗅球 sGnRH 含量在性腺发育早期低，到中期急剧增加，提示嗅球的 sGnRH 可能具有重要的生殖功能。嗅球的 GnRH 在调节性成熟和脑垂体-性腺轴的分化方面的作用在鼠(Schwanzel-Fukuda 等，1985)、猪(Schwanzel-Fukuda 等，1981)、金鱼(Yu 等，1987)、新月鱼(Halpern-Sebold 和 Schreibman，1983)等，已有报道。Okuzawa 等 (1990) 根据虹鳟 sGnRH 含量在嗅球、端脑、下丘脑的变化，认为随着性成熟，sGnRH 从位于前脑区的 sGnRH 核周体输送到了脑垂体，从而刺激脑垂体的 GtH 分泌。从本实验结果看，鲤鱼性腺发育到成熟期，嗅球 sGnRH 含量急剧下降，脑垂体 sGnRH 含量明显升高，其他各脑区 sGnRH 含量略有减少，表明脑垂体 sGnRH 含量的增加可能来源于嗅球。

在性成熟金鱼，脑垂体 GnRH 含量约占脑总含量的 5%；在其他硬骨鱼类，如成熟鲻鱼(Sherwood 等，1984)、雌新月鱼(Halpern-Sebold，1983)等，脑垂体 GnRH 含量通常不超过脑总含量的 15%。用异源 mGnRH RIA 系统，Dufour (1982)等发现，欧洲鳗鲡的脑垂体含脑 GnRH 总免疫活性的 25%。从本实验结果知，性成熟鲤鱼脑垂体 sGnRH 含量占脑总含量的 16.48%。这些结果表明，脑垂体 GnRH 含量具有较大的种间差异。鲤鱼脑垂体 sGnRH 含量在成熟期显著升高，可能对于促进脑垂体 GtH 的合成和分泌，诱导排卵前的 GtH 释放高峰，具有重要作用。

综合对金鱼(Yu 等，1987)和虹鳟(Okuzawa 等，1990)的研究发现，不同种类的鱼，sGnRH 在脑区的分布具有种间差异。但总的来看，视盖-丘脑和端脑的 sGnRH 含量最高，小脑最低，其他脑区的 sGnRH 含量随着性腺发育状态不同有较大的变化。鲤鱼视盖

–丘脑的 sGnRH 含量在性腺发育不同时期始终保持恒定，小脑的 sGnRH 含量也变化不大，故推测视盖–丘脑和小脑的 sGnRH 可能与性腺发育没有直接关系。Okuzawa 等(1990)根据虹鳟视盖–丘脑、小脑或延脑的 sGnRH 含量变化，也认为这些脑区的 sGnRH 在中枢神经系统起着神经递质的作用，对调节 GtH 的分泌几乎没有作用。此外，鲤鱼大部分脑区的 sGnRH 含量都显示出比较一致的季节性变化，即性腺发育早期较低、中期和成熟期最高，退化期又下降。这提示，不同脑区的 sGnRH 在调节 GtH 分泌和促进性腺发育成熟的过程中，可能同时也作为一个整合单位(integrated unit)而起作用(Yu 等，1987；Rosenblum 等，1994)。

3.3 鲤鱼脑 sGnRH 含量与年龄有关的变化

3 月龄幼鱼脑 sGnRH 总含量只有 1^+龄鱼的 8.78%，表明脑的 sGnRH 的功能还不成熟。幼鱼视盖–丘脑的 sGnRH 含量最高，和成熟鱼相似，但其他脑区的 sGnRH 含量却没有明显的分布区域的变化。sGnRH 分布区域的变化与此区域的功能相关。幼鱼 sGnRH 在各脑区的分布相似，反映出幼鱼脑的 sGnRH 的功能还不具备或刚开始分化。但 Rosenblum (1994)对金鱼幼鱼的研究发现，sGnRH 主要在端脑和间脑，而脑垂体的 sGnRH 含量最低。从本实验结果看，鲤鱼幼鱼脑垂体的 sGnRH 含量占脑 sGnRH 总含量的比例较高(12.71%)。鲤鱼幼鱼脑垂体含有较高的 sGnRH，可能是激活 HPG 轴，启动性腺发育的重要因子。

1^+龄和 3^+龄性腺成熟期鱼的脑 sGnRH 总含量没有差别，表明 3^+龄鱼还没有显示出老化的迹象。1^+龄和 3^+龄鱼相比，脑 sGnRH 分布最明显的差别在脑垂体和嗅球。1^+龄鱼性腺发育中期时嗅球 sGnRH 含量显著升高，到成熟期又明显降低，而脑垂体的 sGnRH 含量则相反。3^+龄性成熟鱼嗅球的 sGnRH 含量仍保持在高水平，而脑垂体的 sGnRH 含量则很低。1^+龄鱼和 3^+龄鱼的 GSI 相似，表明其生殖力没有明显区别，但脑垂体 sGnRH 含量明显减少，可能与将来老龄鱼生殖力下降有关。

总之，本研究结果表明，鲤鱼脑 sGnRH 含量及其分布具有明显的生殖季节性变化，随年龄增长而发生变化。

参 考 文 献

Amano M, Oka Y, Aida K *et al*, 1991. Immunocytochemical demonstration of salmon GnRH and chicken GnRH–II in the brain of the masu salmon (*Onchorynchus masou*). *J. Comp. Neurol.*, **314**: 587–597.

Amano M, Aida K, Okumoto N *et al*, 1992. Changes in salmon GnRH and chicken GnRH–II contents in the brain and pituitary, and GtH contents in the pituitary in female masu salmon, *Oncorhyncus masou*, from hatching through ovulation. *Zool. Sci.*, **9**: 375–386.

Amamo M, Hyodo S, Kitamura N *et al*, 1995. Salmon GnRH synthesis in the preoptic area and the ventral telencephalon is activated during gonadal maturation in female masu salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **99**: 13–21.

Dufour S, Pasqualini C, Kerdelhue B *et al*, 1982. Presence and distribution of radioimmunoassayable LHRH in the European eel, *Anguilla anduilla*. *Neuropeptides*, **3**: 159–171.

Halpern–Sebold L R, Schreidman M P, 1983. Ontogeny of centers containing luteinizing–hormone releasing hormone in the brain of the platyfish (*Xiphophorus maculatus*) as determined by immunocytochemistry. *Cell. Tiss. Res.*, **229**: 75–84.

Kah O, Anglade I, Lepretre E *et al*, 1993. The reproductive brain in fish. *Fish Physiol. Biochem.*, **11**: 85–98.

Okuzawa K, Amano M, Kobayashi M *et al*, 1990. Differences in salmon GnRH and chicken GnRH-II contents in discrete brain areas of male and female rainbow trout according to age and stage of maturity. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **80**: 116-126.

Rosenblum P M, Goos H J Th, Peter R E, 1994. Regional distribution and *in vitro* secretion of salmon and chicken-II gonadotropin-releasing hormone from the brain and pituitary of juvenile and adult goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **93**: 369-379.

Schwanzel-Fukuda M, Robinaon J A, Silverman A J, 1981. The fetal development of the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neuronal systems of the guinea pig brain. *Brain Res. Bull.*, **7**: 293-315.

Schwanzel-Fukuda M, Morrell J I, Pfaff D W, 1985. Ontogenesis of neurons producing luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in the nerves terminals of the rat. *J. Comp. Neurol.*, **238**: 348-3643.

Sherwood N M, Harvey B, Browstein M J *et al*, 1984. Gonadotropin-releasing hormone in striped mullet (*Mugil cephalus*), milkfish (*Chanos chanos*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*), comparison with salmon GnRH. *Gen. Comp. Endocrinol.* **55**: 174-181.

Youson J H, Sower S A, 1991. Concentration of gonadotropin releasing hormone in the brain during metamorphosis in the lamprey, *Petromyzon marinus*. *J. Exp. Zool.*, **259**: 399-404.

Yu K L, Nahorniak C S, Peter R E *et al*, 1987. Brain distribution of radioimmuinoassayable gonadotropin-releasing hormone in female goldfish: seasonal variation and periovulatory changes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **67**: 234-246.

DISTRIBUTIONS AND VARIATIONS OF sGnRH IN DISCRETE BRAIN AREAS FROM COMMON CARP (*Cyprinus carpio* L.) OF DIFFERENT AGES AND GONADAL CONDITIONS

WANG Li LIN Hao-ran

(*Institute of Aquatic Economic Animals, Zhongshan University, Guangzhou* 510275)

Abstract

The total content of sGnRH in brain and the regional distributions of sGnRH in discrete brain areas and pituitary were significantly changed with age and gonadal condition. In juvenile fish, the sGnRH was functional inadeguecy, represented by much less total sGnRH content in brain and with no significant distribution variations compared with those of yearling fish. The total content and the regional distributions of sGnRH in discrete brain areas in 3^{+} year old sexually mature fish were similar to those in yearling sexually mature fish, but the sGnRH content in olfactory bulbs was higher and in pituitary was much lower than that in yearling fish. In yearling fish of different ovarian development, the total content of sGnRH was lower in early stage, highly increased in middle and mature stage, and decreased in regressed stage, showing significant seasonal variations. The contents of sGnRH in discrete brain areas also showed seasonal variations.

Key words Gonadotropin-releasing hormone, Discrete brain areas, Age, Common carp